



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**  
**TRABAJO FIN DE GRADO**

**EL USO DE ANTIBIÓTICOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**  
**Y SU CONTRIBUCIÓN AL DESARROLLO DE RESISTENCIAS.**  
**DETERMINANTES DE LA DISEMINACIÓN DE LA**  
**RESISTENCIA A LA COLISTINA**

Autor: Casana Rico, Clara

Tutor: Rotger Anglada, Rafael

Convocatoria: Junio 2017

**Resumen:** Desde los años sesenta, los antibióticos han sido utilizados en la ganadería como promotores del crecimiento, en profilaxis y para el tratamiento de infecciones. El uso indiscriminado de antimicrobianos en la ganadería, con cifras de consumo que doblan las de uso humano, ha dado lugar a la emergencia de patógenos resistentes a antibióticos en la producción alimentaria. Debido a la exposición subinhibitoria, que lleva a una presión selectiva, las bacterias pueden desarrollar resistencias por mutaciones cromosómicas y se puede dar la diseminación mediante transferencia horizontal. Dentro de la cadena alimentaria existen diferentes vías de contacto directas e indirectas de las bacterias resistentes presentes en animales con la población, exponiendo así la salud humana. Por ello debe plantearse un enfoque multidisciplinar, dentro del concepto “One Health”, adquiriendo las medidas necesarias.

La colistina, es uno de los pocos antibióticos peptídicos catiónicos comercializados tanto en humanos como en la medicina veterinaria. En los últimos 20 años ha sido utilizada como último recurso para tratar infecciones causadas por bacterias Gram negativas multirresistentes como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Klebsiella pneumoniae*. La colistina se ha utilizado extensamente como promotor del crecimiento en piensos de animales, como profiláctico para el control de las infecciones con *Enterobacteriaceae* y también como terapéutico. Con el reciente descubrimiento de la resistencia a colistina mediada a través del plásmido *mcr-1* y la alta prevalencia en muestras de animal portadoras de éste gen, comparadas con otros orígenes, la ganadería ha sido señalada como el principal reservorio de la resistencia a la colistina y por lo tanto la principal fuente para su diseminación. Es de crucial importancia prohibir su uso en piensos y como profiláctico y establecer guías de uso racional.

**Abstract:** From the 1960s, antibiotics have been used on livestock as growth promoters, for prophylaxis and to treat infections. The indiscriminate use, with overall figures on animal husbandry that doubles those from human consumption, has led to the emergence of foodborne bacteria resistance. Due to the subinhibitory exposition that drives to selective pressure, resistance can develop through chromosomal mutations and horizontal transfer. There are different direct or indirect ways of contact between resistant bacteria foodborne and human health. This is why an interdisciplinary approach, within the concept One Health needs to be acquired.

Colistin, is one of the few peptide-cationic-antibiotic commercialised for both human and veterinary medicine. For years it has been used to treat infections caused by multidrug resistance Gram Negative bacteria, such as *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. Colistin has been widely used as a growth promoter on animal feed, as prophylaxis for *Enterobacteriaceae* infections and also in therapeutics. With the recent finding plasmid mediated resistance to colistine (*mcr-1*) and the high prevalence of animal samples harbouring this gene, bacterial husbandry has been pointed out as the principal reservoir for the resistance. It is critically important to ban its use on animal feed and in prophylaxis and to establish guidelines for its rational use.

## 1. INTRODUCCIÓN

**La resistencia antimicrobiana es actualmente reconocida como una de las mayores amenazas para la salud humana en el siglo XXI.** Constituye una de las causas más importantes de muerte. Se aproxima que 27.000 millones de infecciones al año son debidas a infecciones resistentes<sup>1</sup>. Asimismo, éstas se asocian a una mayor mortalidad, coste de tratamiento y duración de las estancias en el hospital<sup>2</sup>.

Es cada vez es más frecuente la asociación de diferentes mecanismos de resistencia para la misma familia de antibióticos en una sola cepa<sup>3</sup>. También es importante señalar que las bacterias ambientales se están señalando como el principal reservorio de los genes de resistencia<sup>4</sup>. Pero el principal factor es la presión selectiva ejercida por el uso masivo de antibióticos en el último siglo, que ha favorecido la diversificación genética de los genes de resistencia.

Además de tratarse de un problema sanitario, también puede llegar a ser el causante de una **crisis económica**. El economista Jim O'Neil (asesor del expresidente David Cameron) al realizar un análisis<sup>5</sup> de la resistencia a los antibióticos, determinó que si no hay un cambio significativo en las tendencias, en 2.050 la tasa anual de muertes ligadas a infecciones resistentes será de 10 millones de personas, lo que se traduce en 100 billones de pérdidas del PIB. Las resistencias a antibióticos se posicionarían como el problema sanitario con mayores costes.

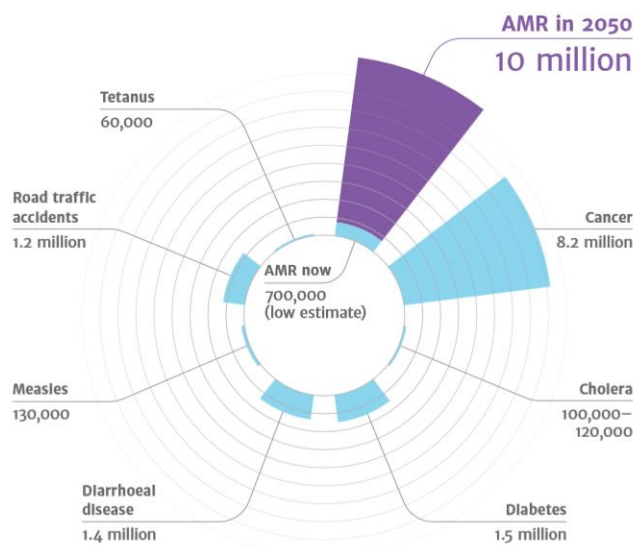


Figura 1: Muertes atribuibles a bacterias resistentes cada año<sup>5</sup>.

La **globalización** también ha afectado al modo de diseminación de las bacterias resistentes. Gracias al comercio, los viajes, la emigración... las cepas resistentes alcanzan cualquier lugar en muy poco tiempo, por lo que el problema es internacional<sup>6</sup>. Un claro ejemplo de ello lo constituye la diseminación del gen de la carbapenemasa NDM-1, que supone un paradigma de la transmisión por viajes<sup>7</sup>.

## El uso de antibióticos en la industria alimentaria

La industrialización llevó a que en el siglo XX se desarrollara la explotación intensiva con el objetivo de una mayor productividad. Los riesgos de enfermedades zoonóticas se acrecientan con el aumento de escala en la cría de animales. La formulación de los piensos, que en numerosas ocasiones contienen antibióticos, también influencia en los riesgos infecciosos<sup>8</sup>.

Como se va a comentar posteriormente, existe **evidencia que relaciona el uso de antibióticos en la agricultura con la pérdida de eficacia de los mismos**. Por esta razón, desde 1969, el comité de Swann propone establecer límites para su uso en piensos. A nivel internacional, desde 1997, la OMS junto con la FDA y la Organización Internacional de Enfermedades Epizoonóticas vuelve a realizar la misma recomendación, y posteriormente en numerosas ocasiones<sup>9</sup>.

Analizando los datos publicados por una empresa alimentaria los científicos Graham y colaboradores descubrieron un impacto positivo tan pequeño que el beneficio marginal no compensaba los costes de compra de los antibióticos y que podía ser conseguido mediante mejora de las condiciones de vida de los animales<sup>8</sup>. Los países escandinavos como Dinamarca y Holanda, han demostrado que se puede disminuir su uso (en un 58%) sin afectar la productividad<sup>8</sup>.

A pesar de estos estudios, a nivel mundial, en **2.010, al menos 63.200 toneladas de antibióticos fueron consumidas por animales de la industria ganadera**<sup>10</sup>. Para 2.030, las predicciones son de aumentar ésta cifra hasta 105.600 toneladas debido al aumento de producción animal, necesario para satisfacer las demandas del aumento de población<sup>11</sup>. China, Estados Unidos y Brasil son actualmente los mayores consumidores.

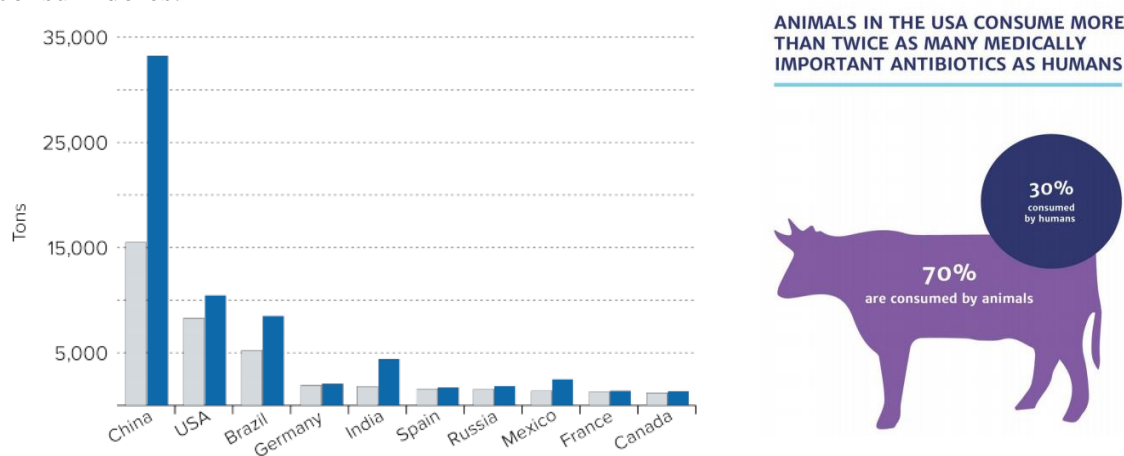


Figura 2 (izda.): Top 10 de los países consumidores de antibióticos en la ganadería. Datos de 2.010 y predicción para 2.030<sup>12</sup>. Figura 3 (dcha.): Los animales en EEUU consumen más de dos veces la cantidad de antibióticos críticos para la medicina humana<sup>5</sup>.

En Estados Unidos, el **70% del uso de los antibióticos es en animales y el 30% en humanos**. Datos similares encontramos en Europa<sup>10</sup>.

Según el último informe elaborado por el ESVAC, en el periodo entre los años 2011 a 2014, se ha disminuido en un 2,4% dicho consumo. Sin embargo, existen países cuyos datos han aumentado. La media de consumo varía entre 3,1-418,8 mg/PCU. Situándose España a la cabeza y Noruega a la cola<sup>7</sup>.

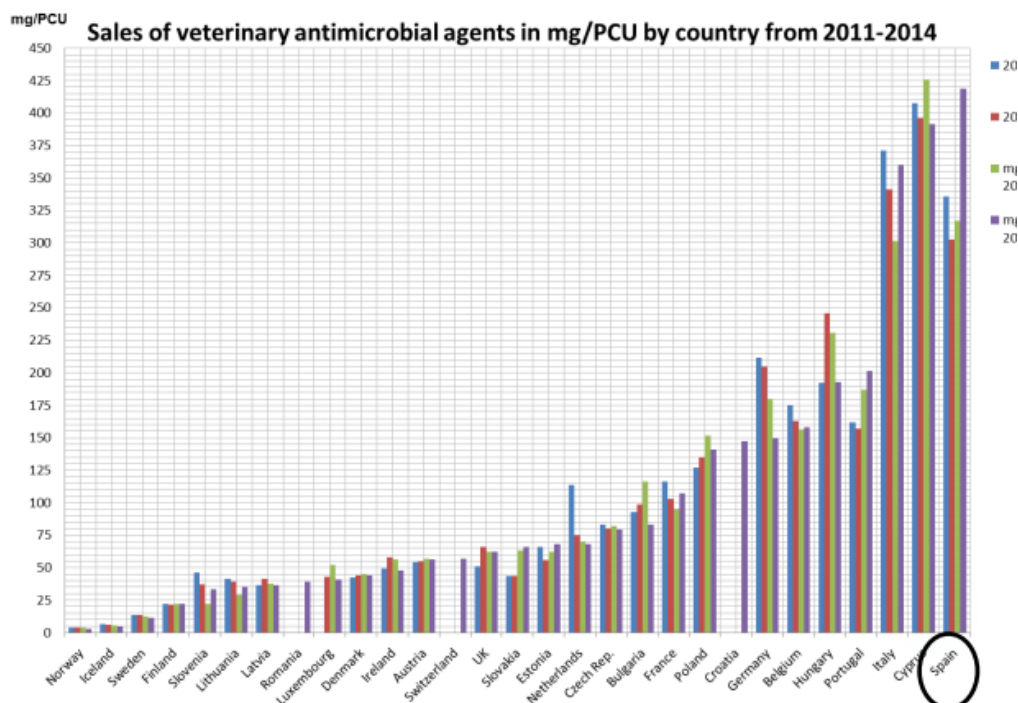


Figura 4: Ventas de antibióticos veterinarios en mg/PCU por país (2011-2014)<sup>16</sup>.

Uno de los principales problemas para evaluar el uso y efecto de los antibióticos en la industria alimentaria es la falta de información fiable. En muchos casos los contenidos de las formulaciones de piensos en antibióticos es considerada información confidencial de negocio<sup>8</sup>. Sin embargo, organizaciones como NARMS (EEUU) y EFSA, ECDC (EU) están realizando esfuerzos para conseguir una imagen global de resistencias.

Sintetizando, el uso de antibióticos tiene 3 objetivos en la producción animal:

- Uso para el **tratamiento de infecciones**: evitando así la diseminación de la infección a otros miembros del grupo y reduciendo la expulsión vía fecal del patógeno<sup>13</sup>.
- Uso como **profiláctico**: su objetivo es prevenir infecciones mediante un tratamiento grupal de animales<sup>12</sup>. Los antibióticos se incorporan a los piensos en formas de premezclas medicamentosas (sólidas o líquidas) a **concentraciones relativamente elevadas**; el resultado se denomina **pienso medicamentoso**<sup>13</sup>.

- Uso como **promotor del crecimiento**: constituye el uso más controvertido, por ello está prohibido en Europa. En éste caso, también se incorpora al pienso en forma de aditivo pero a **concentraciones subterapéuticas**. El mecanismo por el cual los antibióticos favorecen el crecimiento (aumento del peso en un 5%)<sup>12</sup> no se conoce con exactitud, se piensa que:
- Modifican la flora microbiana intestinal, provocando una disminución de los microorganismos causantes de enfermedades subclínicas crónicas.
  - Dan lugar a un adelgazamiento de la pared de los enterocitos que unido a la regulación de la flora intestinal favorece absorción de nutrientes <sup>13</sup>.
  - Aumento de la producción de vitaminas y otros factores de crecimiento.

Dentro de la ganadería la utilización es desigual: las gallinas y los cerdos son los animales que más consumen antibióticos, seguidos del ganado bovino<sup>12</sup>. Se ha de señalar la acuicultura, de gran importancia mundial, también participa en su consumo<sup>12</sup>.

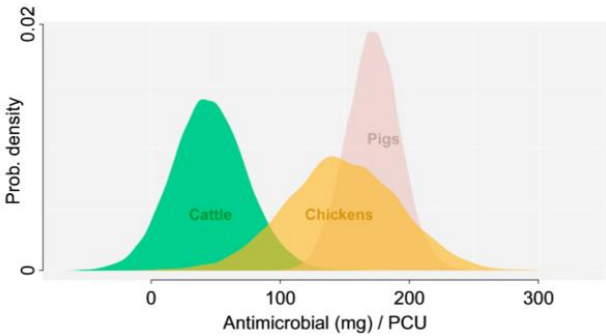


Figura 5: Estimación de distribución del consumo de antibióticos en países de la OCDE<sup>12</sup>.

En cuanto a los antibióticos usados, de las 27 clases existentes, sólo 9 son usadas exclusivamente en animales<sup>14</sup>. Siendo los 3 más vendidos para uso animal, clasificados como críticamente importantes para la medicina humana (macrólidos, penicilinas y tetraciclinas) <sup>14</sup>. Se han dado casos en los que la aprobación del uso anteriormente en la medicina veterinaria que en la humana ha dado lugar a aislados resistentes previos al uso en humanos, como ocurrió con la virginamicina.

Antibiotic Class	Examples of Antibiotics Used in Animals	Importance in Human Medicine *
β-lactams	Penicillin, amoxicillin, ceftiofur	Critically important
Macrolides and lincosamides	Erythromycin, tylosin <sup>§</sup> , tilmicosin <sup>§</sup> , tulathromycin <sup>§</sup> , lincomycin <sup>§</sup>	Critically important
Aminoglycosides	Gentamicin, neomycin	Critically important
Fluroquinolones	Ciprofloxacin, enrofloxacin, danofloxacin <sup>§</sup>	Critically important
Tetracyclines	Tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline	Highly important
Sulfonamides	Several sulfonamides and sulfonamide derivatives	Important
Streptogramins	Virginiamycin <sup>§</sup>	Highly important
Polypeptides	Bacitracin	Important
Phenicol	Florfenicol <sup>§</sup>	Highly important
Pleuromultilin	Tiamulin <sup>§</sup>	-

Figura 6: Tabla de antibióticos clasificados como críticos para la medicina humana por la OMS y que son usados en animales<sup>12</sup>.

## **2. OBJETIVOS DEL TRABAJO:**

El objetivo de ésta revisión es una evaluación crítica de los mecanismos biológicos implicados en la diseminación de resistencias entre ecosistemas, asociando el uso de antibióticos en la ganadería con el aumento de la prevalencia de patógenos resistentes en los alimentos y en el ambiente, así como las infecciones resistentes en poblaciones humanas.

1. Evaluación del consumo de antibióticos en el ámbito veterinario y sus repercusiones directamente relacionadas con la diseminación de resistencias. Estudio de las vías de diseminación de resistencias entre animales y humanos
2. Análisis de la resistencia a la colistina. ¿Se trata de una resistencia originada en el ámbito veterinario? ¿Qué factores han favorecido su diseminación?
3. Análisis de las medidas que se han de tomar con un enfoque de “Salud Única” (*One Health*) para solucionar la crisis mundial de resistencias a antibióticos. Establecer posibles soluciones para reducir el consumo de antibióticos y de la colistina en particular.

## **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

En el presente trabajo se ha llevado a cabo un análisis bibliográfico del uso de los antibióticos en la industria alimentaria y su papel en el desarrollo de resistencias, concretamente en la resistencia a la colistina. Se trata de un estudio descriptivo de la situación actual, acciones ya emprendidas y posibles medidas o perspectivas de futuro.

Las fuentes utilizadas han sido Google, PubMed, la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios), ECDC (Día Europeo para el uso prudente de antibióticos) y los informes ESVAC (Vigilancia Europea para el uso de Antibióticos en veterinaria). Las palabras claves utilizadas en la búsqueda en Google y PubMed fueron: resistencia a antibióticos, uso de antibióticos en la industria alimentaria, resistencia a la colistina, mecanismo de resistencia a la colistina, modo de transmisión resistencia la colistina, uso de la colistina en la industria alimentaria, políticas para reducir el uso de antibióticos en la industria ganadera. Las fechas de búsqueda han sido durante el mes de marzo, abril y mayo de 2017.

#### **4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS**

##### **RESISTENCIA A LA COLISTINA**

###### **El uso de la colistina como antibiótico de última línea y su uso en veterinaria**

La colistina, o polimixina E, es un antibiótico polipéptido, de síntesis no ribosómica, producido por *Paenibacillus polymyxa* var *colistinus*. En los años sesenta y setenta fue usada para infecciones causadas por bacilos Gram negativos<sup>15</sup>, pero su toxicidad renal y neurológica condujo a que fuera sustituida por otros agentes antimicrobianos.

La alta prevalencia y desarrollo de bacterias resistentes, particularmente las bacterias *Enterobariaceae* productoras de carbapenemasas (*E. coli*, *Klebsiella*) y **bacterias multirresistentes gram negativas** (*P. aeruginosa* y *A. baumannii*), ha llevado a la reutilización de la colistina en monoterapia o en asociación con otros antibióticos como **último recurso**. Debido a éste uso, en el caso de Europa, su consumo se ha duplicado en el periodo entre 2.010 y 2.014. La principal indicación en la medicina clínica es el tratamiento de fibrosis quística e infecciones sistémicas graves. En algunos países además es usada como profilaxis de infecciones asociadas al sistema digestivo en estructuras sanitarias<sup>16</sup>. Aun así la utilización en humanos es prácticamente despreciable si se compara con su uso en la producción animal. Ha sido empleada durante años como promotor del crecimiento en piensos y para prevenir infecciones<sup>17</sup>. El último informe (2.013) publicado por la ESVAC<sup>18</sup> situaba a **las polimixinas (6,1%) como el quinto grupo de antibióticos más usado en animales**. Del grupo de las polimixinas, la colistina representa el 99,9%.

Con el reciente descubrimiento de la resistencia a colistina mediada a través del plásmido que contiene el gen *mcr-1* y la alta prevalencia en muestras de origen animal, comparadas con otros orígenes (a nivel mundial, en Europa la tendencia es al contrario): **la ganadería ha sido señalada como el principal reservorio de la bacterias resistentes a la colistina**, por lo tanto la principal fuente para su diseminación.

###### **La colistina, su uso en la medicina veterinaria y en la ganadería**

En humanos, existen dos formas de colistina comercializadas: Colistina Metanosulfato Sódica (CMS) y Colistina Sulfato (CS)<sup>19</sup>. Para uso animal está aprobado únicamente el tipo CS (uso oral y tópico), siendo su **principal indicación el control de infecciones por *Enterobariaceae***, concretamente de *E. coli*<sup>20</sup>.

**El principal uso de la colistina en ganadería es como profiláctico**. Aproximadamente el 99% de la colistina usada en cerdos se realiza con éste fin<sup>17</sup>. Otros usos son el terapéutico y como promotor del crecimiento en el ganado de algunos países. El uso de la CS no está aprobado en la ganadería en Canadá ni en USA; sin embargo, sí que lo está la polimixina B (muy similar en estructura y mecanismo de acción) y también se ha detectado el uso de la colistina bajo responsabilidad veterinaria en Canadá<sup>21</sup>. En la Unión Europea, el uso en animales se registra desde 1.950. Su principal aplicación es



en cerdos, incluyendo tratamiento de grupo y prevención de diarrea causada por *E. coli* y *Salmonella* spp, también la diarrea neonatal en terneros y cerdos. Su uso como aditivo alimentario fue prohibido hace dos décadas.

### La colistina, su mecanismo de acción

La colistina es una gran molécula lipopéptica anfipática cíclica. Su hidrofobicidad se debe principalmente al residuo de ácido graso, y su hidrofilia a sus 5 aminoácidos L -diaminobutíricos (L-Dab), que también dan lugar a su carga positiva a pH fisiológico, responsable de la interacción con el lipopolisacárido (LPS) de la membrana plasmática<sup>19</sup>.

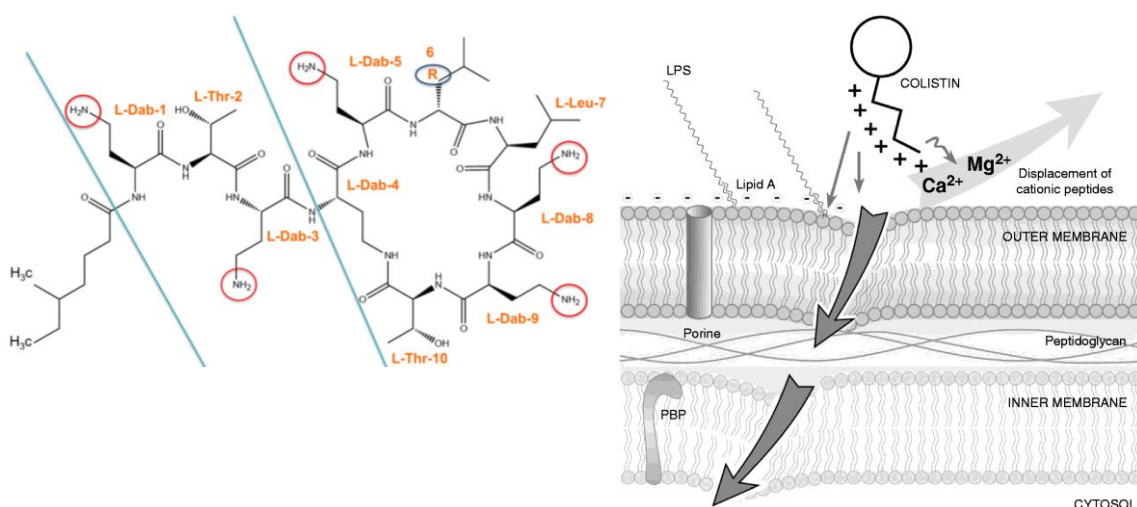


Figura 7(izda.): Estructura química de la colistina, compuesta de 3 partes: (A) cola de ácido hidrofóbico, (B) segmento interno tripéptido, (C) heptapéptido hidrofílico<sup>19</sup>. Figura 8 (dcha.): Mecanismo de acción de la colistina en la membrana bacteriana<sup>22</sup>.

Su espectro de acción es estrecho, actúa únicamente en las Bacterias Gram negativas (GNB), puesto que son las únicas que poseen LPS. La colistina se une inicialmente a la porción del lípido A del LPS mediante interacción electrostática entre los residuos L-Dab cargados positivamente y los grupos fosfato cargados negativamente<sup>23</sup>. Posteriormente desplaza competitivamente los cationes divalentes estabilizantes de la membrana ( $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ), y se inserta en la membrana externa mediante su terminal hidrofóbica. Estas acciones dan lugar a la destrucción de la integridad de la bicapa lipídica<sup>19</sup>, alterando el equilibrio osmótico, que lleva a la salida de contenido celular y a la muerte bacteriana.

El mecanismo bactericida basado en la lisis de la membrana ha sido el más documentado, sin embargo el mecanismo de acción ulterior concreto no se conoce. Se sabe que también ejerce una actividad anti-endotoxina debido a su unión con el lípido A del LPS. Además se ha observado la producción de radicales hidroxilo por la reacción de Fenton. Más recientemente, se ha visto que la colistina era capaz de inhibir la enzima vital respiratoria NADH-quinona oxidoreductasa en la membrana interna de GNB<sup>19</sup>.

## Mecanismos de resistencia

### Resistencia cromosómica adquirida

La resistencia cromosómica a la colistina, es debida a la alteración del componente celular que constituye la diana del antibiótico, es decir, debido a la modificación del LPS que inicialmente necesita una carga negativa para interaccionar con la molécula policationica de la colistina<sup>24</sup>. La modificación más común es la sustitución de los grupos fosfato por 4- amino- 4 deoxi-L-arabinosa (L-Ara4N) y la siguiente más común es la modificación mediante fosfoetanolamina (PEtN)<sup>24</sup>.

En *Salmonella* y *E. coli*, la biosíntesis de L-Ara4N y PEtN es mediada por un sistema de dos componentes sensores y reguladores con actividad quinasa denominados **PmrA/PmrB** y **PhoP/PhoQ**<sup>19</sup>. La resistencia cromosómica es debida a mutaciones específicas que llevan a la **activación constitutiva de éste sistema y consecuente sobreexpresión de genes que modifican el LPS, llevando a una permanente modificación del lípido A con PEtN y L-Ara4N**<sup>24</sup>. La activación de la quinasa PhoQ lleva a una reacción en cadena activando pmrD y Pmr A/B, que a su vez activa de los operones *pmrCAB* y *arnBCADTEF-pmrE* implicados en la síntesis y transferencia de PEtN y L-Ara4N al lípido A<sup>24</sup>.

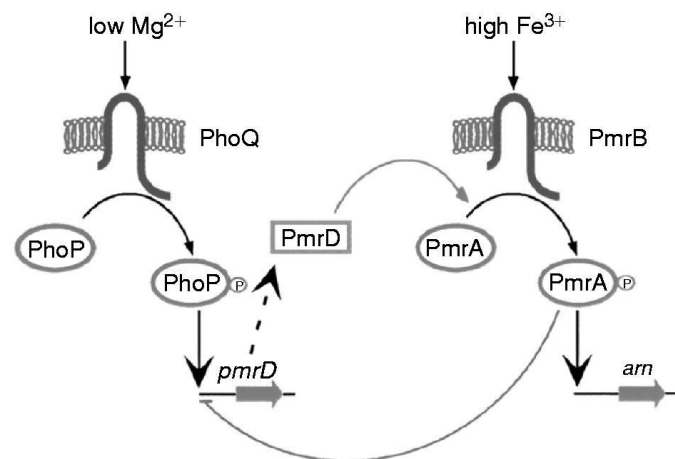


Figura 9: Sistema regulador de dos componentes, PmrA/PmrB y PhoP/PhoQ<sup>22</sup>.

Los siguientes microorganismos presentan uno o varios de los diferentes mecanismos de resistencia cromosómicos descritos<sup>24</sup>: *S. enterica*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. baumannii*, y *P. aeruginosa*.

## Transferencia horizontal de la resistencia a la colistina.

Todos los mecanismos de resistencia descritos hasta 2015 implican mutaciones cromosómicas; no es hasta noviembre de ese año cuando se describe por primera vez la resistencia a la colistina vía transferencia horizontal. En el transcurso de una vigilancia rutinaria de la bacteria *E. coli* comensal en la **industria alimentaria** porcina un grupo de investigadores chinos aislaron a partir de una **cepa de *E. coli* un plásmido (pHNSHP45) portador del gen *mcr-1* (plasmid mediated colistine resistance)**<sup>25</sup>. Posteriormente, el gen *mcr-1* ha sido identificado en diferentes plásmidos de distintos grupos de incompatibilidad como IncHI2, Pvt553, IncX4, IncP y Pkp81-BE aislados de *E. coli* procedente de aves de corral, ganado bovino y porcino junto con los plásmidos IncX4 de *Salmonella* procedente de carne de gallina y pavo<sup>25</sup>. Estos hallazgos muestran **la capacidad de transmisión horizontal de *mcr-1* a plásmidos de otros tipos, aumentando así el rango de bacteria diana.**

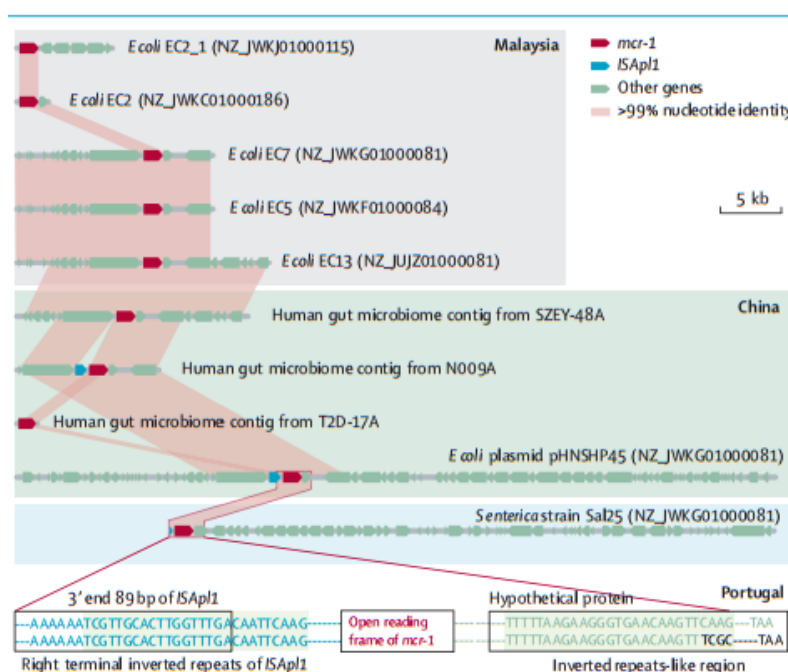


Figura 9: Comparación de secuencias genómicas portadoras de *mcr-1*<sup>26</sup>.

En junio de 2016, se identificó un nuevo gen de resistencia a colistina, *mcr-2*, portado por un plásmido de *E. coli* procedente de ganado bovino y porcino de Bélgica<sup>27</sup>. Las proteínas MCR-1 y MCR-2 presentan una homología del 80,65% y son miembros de la familia enzimática fosfo-etanolamino transferasas, que adiciona el grupo fosfo-etanolamino al lípido A, disminuyendo la afinidad del LPS<sup>19</sup> por la colistina.

También en 2016 Veldman *et al.* detectaron por primera vez el gen *mcr-1* localizado en el cromosoma de dos cepas de *E. coli* resistentes a colistina procedentes de carne de ternera. La misma secuencia de inserción (ISAp1-*mcr-1*) detectada en el plásmido pHNSHP45 se halló en el cromosoma bacteriano<sup>25</sup>. La presencia de esta secuencia de inserción sugiere fuertemente la **capacidad del gen de transponerse al cromosoma.**

## Extensión de la resistencia

Una gran cantidad de informes, la mayoría retrospectivos, han surgido a consecuencia de la primera detección de *mcr-I*<sup>25</sup>, sobre su aislamiento en **varios países de 4 continentes: Asia, África, Europa y América** (ver mapa). Se han identificado aislados portadores de *mcr-I* en análisis datados de 1980<sup>28</sup>. Concretamente se ha detectado *mcr-I* en *Enterobacteriaceae*, incluyendo *E.coli*, *Salmonella* y *Klebsiella*, y en otros organismos Gram negativos, **procedentes tanto de hospedadores humanos y animales, como de carnes, vegetales, de medio ambiente (incluyendo aguas) e incluso de aves migratorias salvajes**<sup>29</sup>.

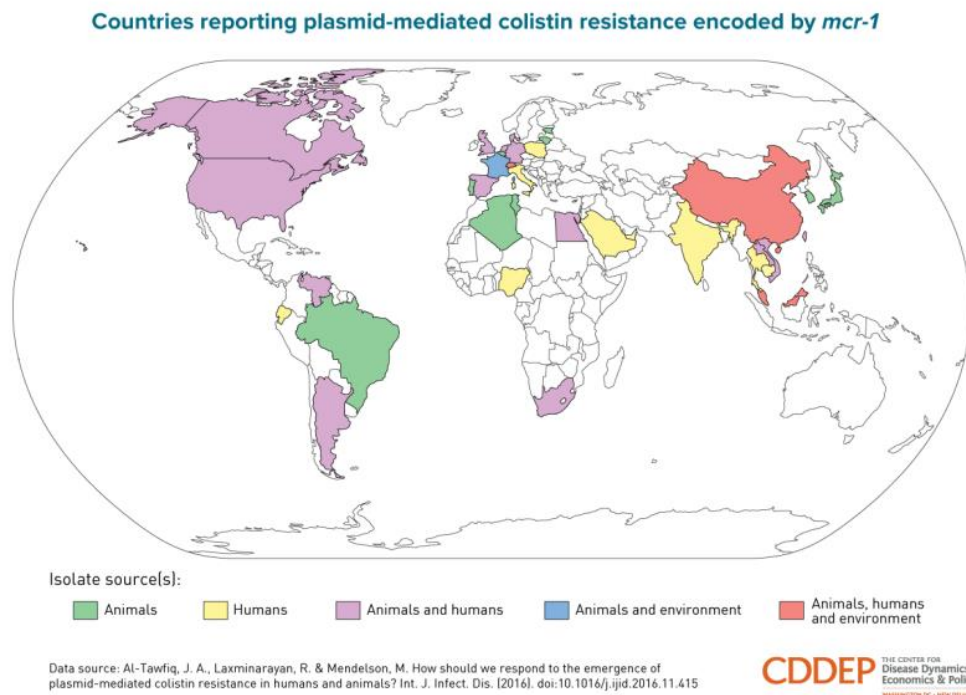


Figura 10: Países con casos de resistencia a la colistina por la presencia de *mcr-1*<sup>12</sup>.

Probablemente la mayor preocupación es la **asociación de *mcr-1* con otros elementos de resistencia**, como beta-lactamasas de amplio espectro (ESBL) y carbapenemasas: se ha descrito la combinación de *mcr-1* y *bla*<sub>CTX-M</sub> en bacterias de ganado porcino (Alemania y Vietnam)<sup>28</sup>, pollos y terneros<sup>19</sup> y recientemente se ha detectado ligada a la metalo-beta-lactamasa de Nueva Delhi (NMD-1)<sup>30</sup>.

Hasta el momento, no ha habido informes de brotes o muertes causadas por microorganismos portadores del gen *mcr-1*. Aunque es posible la portación asintomática de bacterias con este gen, existe el riesgo de que se disemine a través de plásmidos a otras cepas más virulentas o clones hiperepidémicos. Sin embargo, sí que ha sido reportada una muerte causada por una *Klebsiella* portadora de NMD<sup>31</sup> y también resistente a la colistina, pero no a través de *mcr-1*. Todos estos hallazgos señalan la importancia de controlar activamente la resistencia y su uso en animales.

### La relación entre el uso de antibióticos y la resistencia a éstos mismos

En numerosos estudios se han señalado **resistencias en la cadena alimentaria**: altos niveles de resistencia de *Enterococcus* a vancomicina en los años 90 en Europa (el uso de avoparcina en la ganadería dio lugar a una resistencia cruzada a la vancomicina), productos colonizados con *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM)<sup>32</sup>. *Campylobacter* spp. resistente a antibióticos, enterobacterias productoras de beta-lactamasas de amplio espectro<sup>33</sup>. Pero las alarmas se han disparado cuando dichas **resistencias pueden adquirir el nivel de pandemia**: con las bacterias enterobacterias portadoras de VIM-1<sup>33</sup> y *E coli* portador del gen *mcr-1*<sup>25</sup>, en cerdos alemanes y chinos respectivamente.

Para entender el impacto del uso de antimicrobianos en la industria alimentaria y sus efectos en la salud humana, es necesario saber cuáles son **los eventos que dan lugar a las resistencias y facilitan su diseminación**.

La primera evidencia científica es que **el aumento de exposición a antibióticos lleva a un aumento de resistencias**. El contacto con **concentraciones subinhibitorias** de antibióticos durante un tiempo continuado, como ocurre en los piensos de animales, es particularmente efectivo para la selección de cepas resistentes, evolucionando a fenotipos resistentes mediante la mutación de genes diana<sup>34</sup>.

Un reciente estudio que incluía 7 países europeos, encontró una fuerte correlación entre los niveles de antibióticos usados en piensos y las resistencias de *E. coli* comensal frente a dichos antimicrobianos en cerdos, aves de corral y ganado bovino.<sup>35</sup>

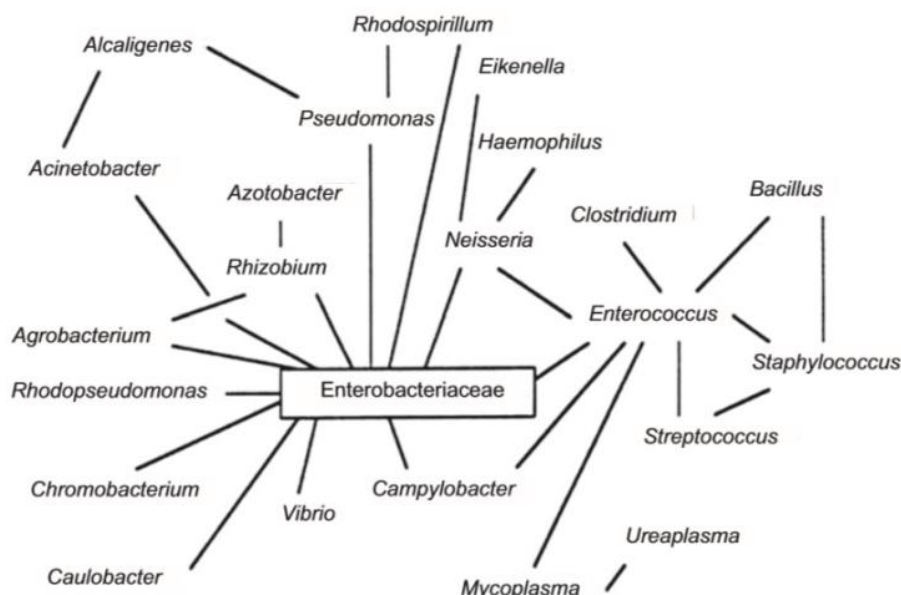


Figura 11: Intercambio genético entre especies bacteriana<sup>8</sup>

La segunda evidencia es que las bacterias pueden **compartir genes de resistencia**. Ésta forma de diseminación **mediante elementos genéticos como plásmidos, transposones, integrones, casetes génicas y bacteriófagos es la más peligrosa para la salud pública**, debido a su alta facilidad de transmisión y a que supone un 95% de las resistencias microorganismos<sup>8</sup>. Se trata de un desafío para la salud pública, que anteriormente se centraba en patrones de resistencia específicos para determinadas bacterias patógenas. En la figura 11, se muestra la capacidad de diseminación horizontal de los genes de resistencia entre bacterias de diferentes especies.

La tercera evidencia: **la disminución de su uso lleva a un descenso de las resistencias**. Esto se ha comprobado en numerosos **análisis ecológicos**, como el realizado durante la campaña de reducción del uso de antibióticos en Bélgica (2.011-2.014)<sup>36</sup>. Se observó una disminución general en las resistencias de *E. coli* comensal en diferentes especies ganaderas que fue atribuido a la disminución del uso. Queda éste fenómeno explicado de manera gráfica en la figura 12, publicada por Jeroen Dewulf, director de estudios de la Universidad de California.

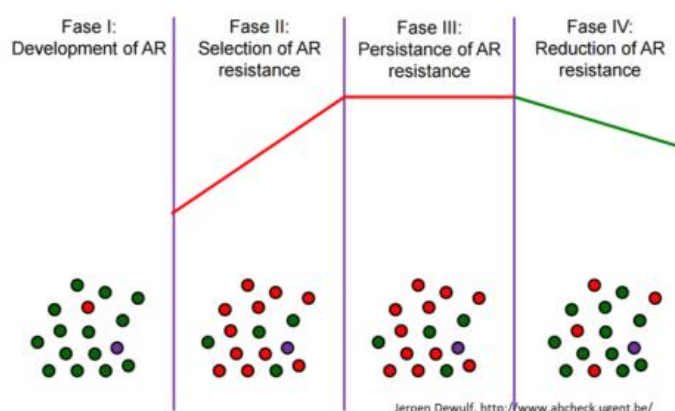


Figura 12: Epidemiología de la resistencia a antibióticos.

Y por último, la cuarta evidencia científica: **las bacterias resistentes a antibióticos de origen animal pueden ser transmitidas por diferentes vías a los humanos**<sup>13</sup>. Dichas bacterias pueden resultar potencialmente patógenas para las personas.

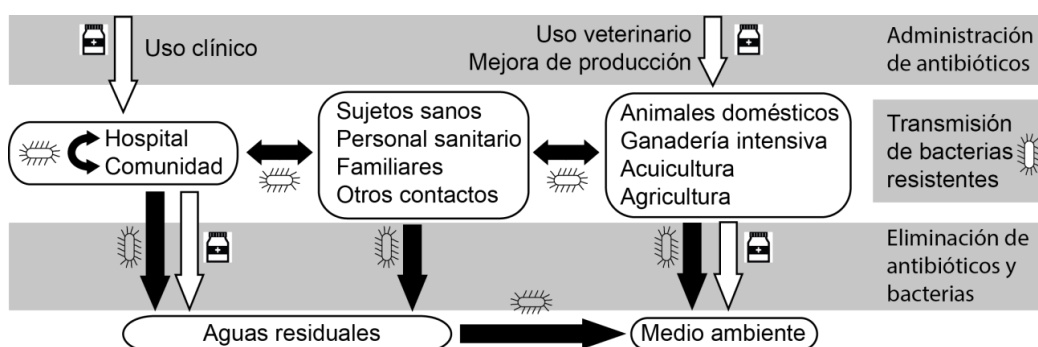


Figura 13: Medios de transmisión de resistencias entre los distintos componentes del medio ambiente y del sistema sanitario<sup>37</sup>.



Las líneas que conectan el uso de antibióticos en la ganadería con la salud humana son:

1. **Transmisión indirecta a través del manejo de residuos.** Los residuos animales pueden contener bacterias resistentes, antibióticos activos, sus metabolitos... que pueden dar lugar a: la contaminación de cultivos al usar estiércol animal sin tratar, la contaminación de aguas con éstos residuos, los aerosoles de partículas de biosólidos pueden ser liberados desde las plantas de producción, incluso las moscas domésticas han mostrado tener un papel significativo en la epidemiología de ciertas infecciones<sup>8</sup>.

El suelo y el agua, hábitat natural de numerosas bacterias pueden entrar en contacto con las bacterias resistentes o antibióticos y gracias a los fenómenos de transferencia horizontal, la selección y coselección de genes de resistencia, aumentar el reservorio de bacterias resistentes en el medio.

El gen *mcr-1* de resistencia a la colistina ha sido identificado en cepas de *E. coli* aisladas a partir de muestras del medio ambiente como agua de río, estiércol, aves migratorias, piensos para pollos y verduras<sup>19</sup>.

2. **Transmisión directa animal-humano.** Es debida al contacto directo con animales infectados/colonizados o sus sustancias biológicas, y por tanto, presentan un alto riesgo los veterinarios, granjeros, trabajadores de mataderos<sup>38</sup>.

Para analizar ésta vía de transmisión se realizan **estudios intersectoriales de poblaciones específicas** (población en riesgo) junto con la presencia de bacterias resistentes en animales, residuos de animales y el ambiente. Un ejemplo es el análisis realizado en granjas avícolas de Vietnam<sup>38</sup>, donde tomaron muestras fecales de gallinas y de sus granjeros, además de tomar muestras de personas no relacionadas con las granjas. En él concluyeron: **la colonización con bacterias portadoras de *mcr-1* está asociada con el uso de la colistina**; y que la colonización de humanos estaba asociada con pollos positivos a *mcr-1*. Existen otros estudios donde la transmisión zoonótica de *E. coli* resistente a la colistina ha sido detectada a partir de cerdos<sup>19</sup> y animales de compañía<sup>39</sup>.

3. **Transmisión indirecta alimentación-humano.** Es la vía de contaminación más compleja. Si se ingieren alimentos (carne, huevos, leche y productos lácteos) que contienen organismos resistentes, éstos pueden transferir su información genética a los gérmenes presentes en el intestino humano.

Existen estudios que han examinado la prevalencia de bacterias resistentes en productos en cuya fabricación se han empleado antibióticos y en los que no. En un análisis de muestras de *E. coli* en la producción avícola con colibacilosis<sup>40</sup>, se encontró que los países donde las resistencias eran mayores, China (25%) y Egipto (13%), coincidían con los países que utilizaban la colistina como promotor de crecimiento. **La amplia distribución del gen *mcr-1* en carne y**

**muestras alimentarias, sugiere fuertemente una potencial diseminación a través de la cadena alimentaria.**

Comentar que en los países en vías de desarrollo debido a una menor bioseguridad en las plantas de producción y en el manejo de los residuos, existe tanto el riesgo de transmisión directa como el de indirecta. Sin embargo, en los países desarrollados, la transmisión indirecta es la que predomina<sup>41</sup>.

## **5. CONCLUSIONES**

### **Medidas a tomar**

Las acciones para contener la diseminación de resistencias han de ser multidisciplinares, interprofesionales y transversales, identificadas con el concepto *One Health* (Una Salud). Asegurando así la seguridad alimentaria, para combatir las enfermedades infecciosas y disminuir la emergencia y diseminación de resistencias a antibióticos.

Paradójicamente, son los países con una peor política y reglamentación en el uso de antibióticos en la producción animal, los que han de hacer frente a un mayor aumento en la demanda de proteína animal<sup>13</sup>. Por ello es necesario hacer un sobreesfuerzo en el caso de los países en vías de desarrollo.

1. Es necesario **sensibilizar a todos los eslabones de la cadena alimentaria**: desde los ganaderos, veterinarios, manipuladores de alimentos, hasta los consumidores.
2. Los **ganaderos** han de disponer del conocimiento y las herramientas necesarias para **optimizar los sistemas de producción sin utilizar antibióticos** como aceleradores del crecimiento y para minimizar su uso profiláctico.
3. Una mayor **transparencia en el etiquetado**, permitiendo a los consumidores elegir, si lo desean, productos en cuya fabricación no se hayan empleado antibióticos.
4. **Monitorizar el uso de antibióticos en la industria ganadera**, como han recomendado las Naciones Unidas<sup>9</sup>. Recogiendo así información sobre patrones locales de enfermedad, tendencia en resistencia y uso de antibióticos, para promover las políticas y buenas prácticas. Países en vías de desarrollo como Colombia ha demostrado que también es posible con el programa COIPARS. Es especialmente importante seguir las recomendaciones de la OMS, en el caso de los antibióticos clasificados como críticos para la salud humana.

Pero prohibir a escala global el uso de antibióticos como promotores del crecimiento podría dar lugar a un efecto rebote, conduciéndose a un aumento del uso con fines profilácticos o terapéuticos, ya que resulta complicado desligar con precisión las funciones promotoras o profilácticas. Es por ello que sería necesario vigilar muy estrechamente el consumo. Es probable que en España haya ocurrido dicho fenómeno de incremento de uso de antibióticos en



veterinaria tras la prohibición de su uso en piensos en concentraciones subinhibitorias, puesto que en los 4 últimos años su consumo ha aumentado.

5. **Reforzar la educación de los veterinarios para la prescripción adecuada de antibióticos**, ya que se estima que más del 40% de las prescripciones de antibióticos son inadecuadas<sup>41</sup>. Los agentes antimicrobianos sólo se deberían usar con fines terapéuticos (usando pruebas diagnósticas y en momentos puntuales) y profilácticos (casos excepcionales y empleando antibióticos no críticos para la medicina humana).
6. Relacionado con el punto anterior, es necesaria la **inversión en métodos de diagnósticos modernos, rápidos y eficaces**, para dar lugar a una utilización no empírica, racionalizada e individualizada de los antimicrobianos.
7. **Investigación en todo el resistoma y mobiloma bacteriano, mediante sistemas de vigilancia integrados de la cadena alimentaria.**
8. Es importante señalar la sequía que sufre actualmente el desarrollo de nuevos antimicrobianos, por tanto, es necesario tanto **impulsar la investigación** en antimicrobianos como **un cambio de perspectiva**, buscando antibióticos de espectro reducido para que puedan ser utilizados tras emplear pruebas diagnósticas eficaces y rápidas. También **se ha de apostar por alternativas** como el desarrollo de fagos, anticuerpos monoclonales, péptidos, moduladores de microbianos, inmunomoduladores, y por supuesto, las vacunas<sup>42</sup>.
9. Elaborar una **legislación estricta acerca de los residuos animales** producidos. Especialmente porque se ha sido estimado que el 75% de los antibióticos administrados no son absorbidos, sino excretados vía fecal o urinaria. Éste hecho es especialmente significativo para la colistina, que es pobremente absorbida en el tracto intestinal animal, pudiendo explicar los altos contenidos resistencias en los desechos provenientes de granjas.

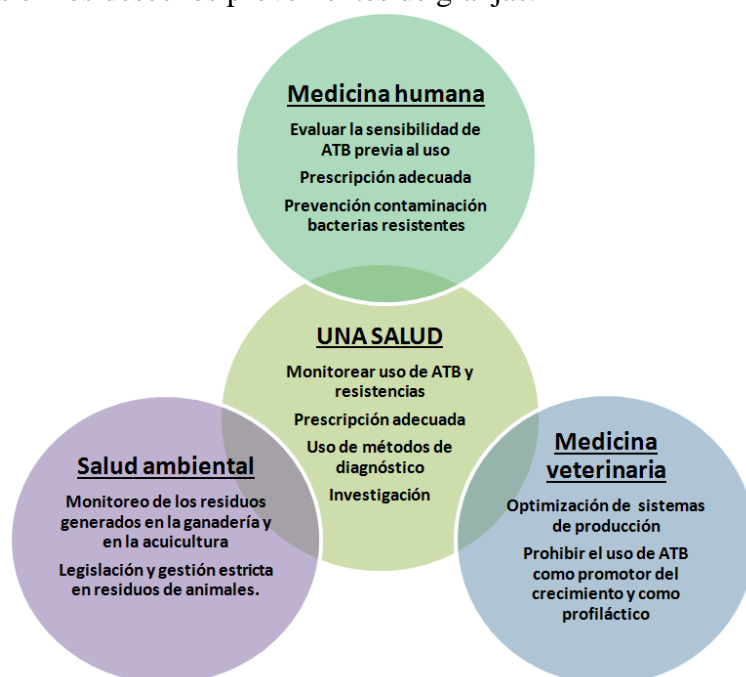


Figura 14: Representación esquemática de varias acciones a llevar a cabo para asegurar el control de la resistencia a antibióticos desde una perspectiva de *One Health*.

### **En relación con el consumo de antibióticos en la industria ganadera**

Un elemento importante en la salud pública es estimar la proporción de un riesgo que se puede atribuir a una fuente específica o actividad (**riesgo atribuible**). La resistencia a antibióticos está relacionada con todos los usos de estos fármacos, resultando extremadamente difícil calcular cuál es el riesgo atribuible específico debido al uso de antibióticos en animales, debido a la falta de datos de monitorización y de control de resistencias.

La mayoría de infecciones resistentes son comúnmente consideradas de origen nosocomial, porque es en el entorno hospitalario donde son más frecuentemente diagnosticadas. Sin embargo, la gran cantidad de resistencias generadas mediante el uso de antimicrobianos en la cría de animales puede dar lugar a un amplio reservorio de poblaciones portadoras de resistencias antibióticos. Estas resistencias pasan al medio hospitalario conforme dichas personas son hospitalizadas. Así, **los riesgos de ser infectados por un patógeno resistente son mayores en hospitales, pero puede ser que la fuente de la resistencia sea mayor fuera del entorno clínico.**

**Éste análisis concluye que el uso de antibióticos en animales es uno de los mayores determinantes de la resistencia a nivel mundial:** en primer lugar, porque el mayor uso de antibióticos se da en la producción animal; en segundo, porque son usados como aditivos en los piensos animales dando lugar a una presión selectiva masiva; tercero, debido a que antimicrobianos de casi todas las clases son utilizadas en la industria ganadera; y cuarto, porque este uso da lugar a una exposición en los humanos de patógenos resistentes a los antibióticos a través de comida, mediante liberación al medio ambiente y mediante el intercambio genético, desafiando a la mayoría de políticas que respondían a la asociación de bacterias-resistencias específicas.

### **Medidas realizadas en Europa y España para controlar la resistencia a colistina**

Debido a la falta de evidencia científica sobre el impacto de las combinaciones de antibióticos con colistina en la evolución de resistencias, ha llevado a **la UE (CVMP) a recomendar la retirada del mercado de las formulaciones veterinarias que contengan colistina en asociación con otras sustancias antimicrobianas**<sup>16</sup>. España ha implantado un Plan de Vigilancia llevar a cabo dicha Directiva 2001/82/CE. Este proyecto tiene en cuenta acciones ya emprendidas por el sector ganadero (Plan Voluntario de reducción del uso de Colistina en ganado porcino).

El consumo de colistina en el sector de producción animal español es muy elevado. Las recomendaciones de la Comisión Europea<sup>18</sup> establecen un consumo de 5 mg/CPU, en tanto que el consumo español oscila entre 36 y 39 mg/CPU, mostrando éstos datos la importancia de tomar cartas en el asunto.

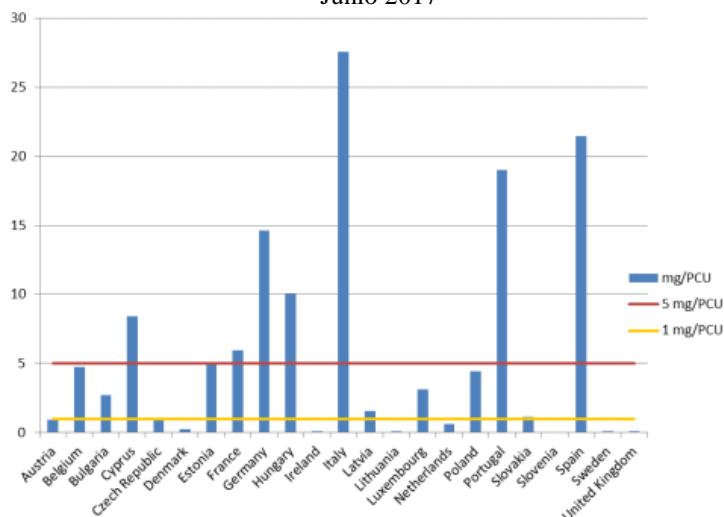


Figura 14: Ventas de colistina para uso en animales en mg/PCU en 2013 (datos del informe ESVAC) incluyendo los límites superior e inferior recomendados (5 y 1 mg(PCU)).<sup>18</sup>

### Conclusiones sobre el uso y la resistencia a la colistina:

A pesar de su alta toxicidad, la colistina es un antibiótico de último recurso usado en bacterias altamente resistentes en la medicina humana. El uso de polimixinas en la cría de animales ha favorecido la aparición del plásmido de resistencia a la colistina. En ese sentido, **es urgente que el uso de este antibiótico sea limitado al tratamiento de animales afectados clínicamente** (infecciones gastrointestinales por bacterias Gram negativas) **y se prohíba su uso como profilaxis** bajo el principio de uso responsable de los antimicrobianos<sup>43</sup>.

Junto con las restricciones de la colistina en uso veterinario es necesario también un **uso racional en medicina humana**: test de susceptibilidad a la colistina; evaluación y optimización de la terapia de colistina en combinación con otros antibióticos y en monoterapia.

A raíz del reciente descubrimiento de la resistencia a la colistina transferible horizontalmente, *mcr-1*, los casos de origen animal han aumentado en los últimos años, aunque la proporción relativa con respecto a los casos clínicos humanos continúa siendo baja en la UE. El gen *mcr-1* ha sido hallado en plásmidos de muestras de animales de la producción ganadera, en comida, en humanos y en el medio ambiente, indicando una posible **transmisión entre estos compartimentos. Existe principalmente un flujo de transferencia identificado desde los animales hacia los humanos.**

También se ha sugerido la capacidad de la secuencia de inserción del gen de **transponerse al cromosoma bacteriano**. Puesto que la resistencia a la colistina en bacterias portadoras de *mcr-1* ha sido asociada a resistencias de otras clases de antibióticos, se sospecha que existan **fenómenos de coselección de resistencias** que dificulten el control de ésta.

**La emergencia y diseminación de bacterias altamente resistentes, especialmente aquellas resistentes a antibióticos de “última línea”, como carbapenemas y colistina, constituyen un grave problema de salud pública y una amenaza para la sanidad y la economía mundial.** Además de comprometer las infecciones, también se compromete la efectividad de intervenciones medicinales como el tratamiento para el cáncer o trasplantes de órganos. Por ello, es imperativo contener la diseminación de éstas bacterias altamente resistentes ahora, particularmente puesto que el desarrollo de nuevos antibióticos está altamente comprometido.

Ha de ser reconocido el verdadero alcance del uso de los antibióticos en la ganadería. Así pues, concluir que éste **no es únicamente un problema de seguridad alimentaria, es un problema que afecta a la salud ocupacional y la exposición medioambiental a través del aire, agua y suelo.**

#### **4. BIBLIOGRAFÍA**

1. Gargallo-Viola D. Nuevas alianzas y estrategias enfocadas al descubrimiento de agentes antimicrobianos. Conferencia jornada del día europeo para el uso prudente de los antibióticos 2016: el reto de la resistencia a los antibióticos. 25 Noviembre 2016; Madrid.
2. ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control. Last-line antibiotics are failing: options to address this urgent threat to patients and healthcare systems. Stockholm: ECDC; 2016 [Internet]. 2016. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antibiotic-resistance-policy-briefing.pdf>
3. McNulty C, Richards J, Livermore D, Little P, Charlett A, Freeman E et al. Clinical relevance of laboratory-reported antibiotic resistance in acute uncomplicated urinary tract infection in primary care. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006;58(5):1000-1008.
4. Nesme J, Cécillon S, Delmont T, Monier J, Vogel T, Simonet P. Large-scale metagenomic-based study of antibiotic resistance in the environment. *current biology*. 2014;24(10):1096-1100.
5. HM govenment- Jim O'Neil. Trackling down antibiotic-resistance globally. 2017
6. Baquero F. Environmental stress and evolvability in microbial systems. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009;15:5-10.
7. El estado actual contra la resistencia bacteriana a los antibióticos. *Panorama actual del medicamento*. 2016;40 (399).
8. Silbergeld E, Graham J, Price L. Industrial food animal production, antimicrobial resistance, and human health. *Annual review of public health*. 2008;29(1):151-169.
9. World Health Org. WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance [Internet]. 2017. Available from: [http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/WHO\\_CDS\\_CSR\\_DRS\\_2017\\_2\\_EN/en/](http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/WHO_CDS_CSR_DRS_2017_2_EN/en/)
10. Van Boeckel T, Brower C, Gilbert M, Grenfell B, Levin S, Robinson T et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2015;112(18):5649-5654.
11. WHO. Antibiotic resistance: global report on surveillance [Internet]. Hilary Cadman, Lindsay Martinez; 2014. Available from:

- [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748\\_eng.pdf?ua=1&ua=1&ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1&ua=1&ua=1)
12. Center for Disease Dynamics, Economics & Policy CDDEP State of the world's antibiotics [Internet]. Washington, D.C...; 2015. Available from: [http://cddep.org/sites/default/files/swa\\_2015\\_final.pdf](http://cddep.org/sites/default/files/swa_2015_final.pdf)
  13. Lekshmi M, Ammini P, Kumar S, Varela M. The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin. *Microorganisms*. 2017;5(1):11.
  14. WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR). WHO list of critically important antimicrobials. Geneva.; 2011.
  15. Jerke K, Lee M, Humphries R. Polymyxin susceptibility testing: a cold case reopened. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2016;38(9):69-77.
  16. European Medicines Agency. Updated advice on the use of European Medicines Agency colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on. 2016.
  17. Catry B, Cavaleri M, Baptiste K, Grave K, Grein K, Holm A et al. Use of colistin-containing products within the European Union and European Economic Area (EU/EEA): development of resistance in animals and possible impact on human and animal health. *International Journal of Antimicrobial Agents* [Internet]. 2015;46(3):297-306.
  18. EMA: European Medicines Agency. Sales of veterinary antimicrobial agents in 29 European countries in 2014 [Internet]. 2017. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Report/2016/10/WC500214217.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2016/10/WC500214217.pdf)
  19. Rhouma M, Beaudry F, Thériault W, Letellier A. Colistin in pig production: chemistry, mechanism of antibacterial action, microbial resistance emergence, and one health perspectives. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7.
  20. Guyonnet J, Manco B, Baduel L, Kaltsatos V, Aliabadi M, Lees P. Determination of a dosage regimen of colistin by pharmacokinetic/pharmacodynamic integration and modeling for treatment of G.I.T. disease in pigs. *Research in Veterinary Science*. 2010;88(2):307-314.
  21. Rhouma M, Beaudry F, Thériault W, Bergeron N, Beauchamp G, Laurent-Lewandowski S et al. In vivo therapeutic efficacy and pharmacokinetics of colistin sulfate in an experimental model of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in weaned pigs. *Veterinary Research*. 2016;47(1)
  22. Bialvaei A, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Current Medical Research and Opinion*. 2015;31(4):707-721.
  23. Velkov T, Thompson P, Nation R, Li J. Structure–activity relationships of polymyxin antibiotics. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2010;53(5):1898-1916.
  24. Olaitan A, Morand S, Rolain J. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in Microbiology*. 2014;5.
  25. Liu Y, Wang Y, Walsh T, Yi L, Zhang R, Spencer J et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *mcr-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16(2):161-168.
  26. Olaitan A, Chabou S, Okdah L, Morand S, Rolain J. Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16(2):147
  27. Xavier B, Lammens C, Ruhel R, Kumar-Singh S, Butaye P, Goossens H et al. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Eurosurveillance*. 2016;21(27)

28. Shen Z, Wang Y, Shen Y, Shen J, Wu C. Early emergence of *mcr-1* in *Escherichia coli* from food-producing animals. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16(3):293
29. Nordmann P, Assouvie L, Prod'Hom G, Poirel L, Greub G. Screening of plasmid-mediated *mcr-1* colistin-resistance from bacteremia. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2016;35(11):1891-1892.
30. Lima Barbieri N, Nielsen D, Wannemuehler Y, Cavender T, Hussein A, Yan S et al. *Mcr-1* identified in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *PLOS ONE*. 2017;12(3):e0172997.
31. Chen L, Todd R, Kiehlbauch J, Walters M, Kallen A. Notes from the Field: pan-resistant new delhi metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* Washoe County, Nevada, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2017;66:33. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6601a7>.)
32. Price L, Stegger M, Hasman H, Aziz M, Larsen J, Andersen P et al. *Staphylococcus aureus* CC398: Host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. *mBio*. 2013;4(1):e00520-12-e00520-12.
33. Fischer J, Rodriguez I, Schmoger S, Friese A, Roesler U, Helmuth R et al. *Escherichia coli* producing VIM-1 carbapenemase isolated on a pig farm. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2012;67(7):1793-1795.
34. Tenover F. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American Journal of Medicine*. 2006;119(6):S3-S10.
35. Chantziaras I, Boyen F, Callens B, Dewulf J. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2013;69(3):827-834.
36. Hanon J, Jaspers S, Butaye P, Wattiau P, Méroc E, Aerts M et al. A trend analysis of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* from several livestock species in Belgium (2011–2014). *Preventive Veterinary Medicine*. 2015;122(4):443-452.
37. Rotger, R. y Martínez Grueiro, M. “Fármacos antimicrobianos. Mecanismos de acción y resistencia” Editorial Dextra, Madrid, 2016.
38. Trung N, Matamoros S, Carrique-Mas J, Nghia N, Nhung N, Chieu T et al. Zoonotic transmission of *mcr-1* colistin resistance gene from small-scale poultry farms, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases*. 2017;23(3):529-532.
39. 8. Lei L, Wang Y, Schwarz S, Walsh T, Ou Y, Wu Y et al. *Mcr-1* in *enterobacteriaceae* from companion animals, Beijing, China, 2012–2016. *Emerging Infectious Diseases*. 2017;23(4):710-711.
40. Lima Barbieri N, Nielsen D, Wannemuehler Y, Cavender T, Hussein A, Yan S et al. *Mcr-1* identified in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *PLOS ONE*. 2017;12(3):e0172997.
41. Founou L, Founou R, Essack S. Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7.
42. Ramón-Pardo P. Resistencia a los antimicrobianos: la amenaza y la acción. Oportunidades y desafíos desde las políticas de salud. Conferencia jornada del día europeo para el uso prudente de los antibióticos 2016: el reto de la resistencia a los antibióticos. 25 Noviembre 2016; Madrid.
43. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. Alerta Epidemiológica Enterobacterias con resistencia transferible a colistina, Implicaciones para la salud pública en las Américas. 2017